

Aus dem Institut für Hygiene der Universität Düsseldorf
und dem Medizinischen Institut für Lufthygiene und
Silikoseforschung an der Universität Düsseldorf

Direktor: Professor Dr. med. Hans-Werner Schlipköter

Abteilung für experimentelle Pathologie
Leiter: Professor Dr. med. Werner Hilscher

"Das Verhalten der Thiaminpyrophosphatase und der Adenosin-
triphosphatase im Hoden unter einer minimalen Schädigungs-
dosis CdCl_2 , untersucht an Wistarratten anhand enzymhisto-
chemischer Methoden"

D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Claus Rehmann

1981

Aus dem Institut für Hygiene der Universität Düsseldorf
und dem Medizinischen Institut für Lufthygiene und
Silikoseforschung an der Universität Düsseldorf

Direktor: Professor Dr. med. Hans-Werner Schlipköter

Abteilung für experimentelle Pathologie

Leiter: Professor Dr. med. Werner Hilscher

"Das Verhalten der Thiaminpyrophosphatase und der Adenosin-
triphosphatase im Hoden unter einer minimalen Schädigungs-
dosis CdCl_2 , untersucht an Wistarratten anhand enzymhisto-
chemischer Methoden"

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Claus Rehmann

1981

"Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf"

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.: Professor Dr.med.dent. Straßburg

Referent
gez.: Professor Dr.med. Hilscher

Korreferent
gez.: Professor Dr.med. Ohnesorge

EINLEITUNG

Cadmiumschäden beim Menschen

Cadmium ist ein gefährliches Kumulationsgift, das bei ständiger Belastung durch die Umwelt nur sehr langsam über die Nieren ausgeschieden werden kann. Es wird daher mit einer auf 10 - 30 Jahre geschätzten biologischen Halbwertszeit im Organismus angereichert, hauptsächlich gebunden an das Transport- und Speicherprotein Metallothionein (Ohnesorge 1973; Sabbioni und Marfante 1975; Singhal, Merali, Hrdina 1976; Squibb, Cousins, Silbon, Levin 1976).

Schon durchschnittliche Cadmiumbelastungen werden in Zusammenhang gebracht mit der Entstehung von cardiovasculären Erkrankungen wie Bluthochdruck und Arteriosklerose (Schröder 1965; Szadkowski, Schaller und Lehnert 1969). Fertilitätsstörungen, Cancerogenität und Teratogenität werden für den Menschen ebenfalls diskutiert, konnten bisher jedoch nur im Tierversuch eindeutig belegt werden (Kipling, Waterhouse 1967; Morgan 1970; Lucis, Lucis, Aterman 1972; Barr jr. 1973; Schoysman 1976).

Niere und Lunge sind die Zielorgane bei chronischen Vergiftungen im industriellen Bereich. Schon frühzeitig tritt Proteinurie auf als empfindlichster Indikator für eine Schädigung (Tsuchiya 1967; Lauwerys, Buchet, Roels, Brouwers und Stanescu 1974). Aufnahme über die Atemwege beeinträchtigt gleichzeitig die Lungenfunktion und kann schließlich zu Emphysem führen (Bonnell 1955). Schäden an anderen Organ-systemen werden erst bei hohen Cadmiumbelastungen beobachtet. Es treten dann Knochendestruktionen, hypochrome Anämie und Störungen des Geruchsinnes auf (Adams und Crabtree 1961; Tsuchiya 1967; Adams, Harrison und Scott 1969). Osteoporose und Osteomalazie standen ganz im Vordergrund bei der Itai-Itai-Krankheit in Japan, wo hohe orale Cadmiumaufnahme mit Mangelernährung zusammentraf. Zusätzlich wurden Pankreas-funktionsstörungen und chronische Gastroenteropathie beobachtet (Murata, Hirono, Saeki und Nakagawa 1970).

Akute Vergiftungen durch orale Aufnahme großer Mengen von Cadmium verlaufen unter dem Bild schwerer hämorrhagischer Gastroenteritiden. Störungen des Wasserhaushaltes, Kreislaufschock, akutes Nierenversagen und schwere Leberschäden sowie cardiopulmonale Funktionsstörungen können schließlich zum Tod führen (Wisniewska-Knypl, Jabłońska und Myślak 1971). Nach akzidentellem Einatmen cadmiumhaltiger Dämpfe treten schwere Lungenveränderungen erst nach einer typischen Latenz von mehreren Stunden auf. In leichten Fällen kommt es lediglich zu einem Metaldampffieber (Beton, Andrews, Davies, Howells und Smith 1966).

Für dieses bunte Schädigungsbild muß man offenbar verschiedene Angriffspunkte der Cadmiumionen im Organismus verantwortlich machen.

Unter kontrollierten tierexperimentellen Bedingungen ist es nun möglich, als eines der Zielorgane der Cadmiumionen selektiv den Hoden zu schädigen, und hier die Cadmiumwirkung unbeeinflusst von Störungen in anderen Organsystemen zu beobachten. Das Verhalten des Hodens besonders von Nagetieren ist so für viele Untersucher zu einem Modell für die Cadmiumwirkung im lebenden Organismus geworden.

Untersuchungen am Hoden als Modell der Cadmiumwirkung

Cadmium verursacht bei Ratten nach parenteraler Gabe von mehr als 0,01 mMol entsprechend 1,83 mg CdCl_2 /kg Körpergewicht schnell eintretende hämorrhagische Nekrosen der Hoden. Die Verhinderung dieser Hodennekrosen durch exzessive Zinkgaben ließ einen direkten Einfluß des Cadmium auf den Zinkstoffwechsel vermuten (Parizek 1957 und 1960; Kar und Das 1960; Hodgen, Butler und Gomes 1969; Johnson und Walker 1970; Gunn und Gould zusammenfassend 1970). Es bestehen jedoch zwischen dem biologischen Verhalten von

Zink und Cadmium keine Gemeinsamkeiten (Saikh und Lucis 1972). Die Aufnahme von Cadmium im Hodengewebe ist außerdem sehr gering (Parizek 1960; Johnson und Miller 1970). Cadmiumzufuhr verringert den Zinkgehalt des Hodens nicht, sodaß also eine Verdrängung von Zink durch Cadmium nicht wahrscheinlich erscheint (Webb 1971 und 1972).

Eine andere Forschungsrichtung arbeitet eine Schädigung der Hoden- und Nebenhodenkopfgefäße als primären Angriffspunkt des Cadmiums heraus. So erhöht sich die Kapillarpermeabilität (Gunn, Gould und Anderson 1963; Mason, Young, Brown und Nesbit 1964; Chiquoine 1964; Niemi und Kormano 1965; Clegg und Carr 1967; Hodgen, Butler und Gomes 1969; Setchell und Waites 1970), und die Blutversorgung fällt auf unter 9 % (Waites und Setchell 1966; Wax 1971). Als zugrunde liegender Mechanismus wird eine Dilatation der Arterien mit einer Konstriktion der Venen angesehen (Johnson und Turner 1972). Dies führt zu Blutstau (Kormano und Suvanto 1968) mit Gefäßrupturen und Hämorrhagien (Chiquoine 1964). Abfall der energiereichen Phosphate mit Auftreten von Metaboliten aus dem Glykolysestoffwechsel zeigen manifeste Ischämie an (Härkönen und Kormano 1970). Dilatation auch der Venen durch zusätzliche Zinkgaben kann der Störung der Durchblutung durch die Cadmiumionen entgegenwirken (Johnson und Turner 1972).

Nach elektronenmikroskopischen Untersuchungen bilden Störungen im Zusammenhalt der Endothelzellen das morphologische Substrat dieser Vorgänge, die nach Sprengen der Desmosomen bis zur völligen Separation der Endothelien gehen. Aktivierung der Blutgerinnung mit Thrombenbildung und Verschluß der Gefäße sind die Folge (Chiquoine 1964; Clegg und Carr 1967; Berliner und Jones-Witters 1975; Fende und Niewenhuis 1977, Aoki und Hoffer 1978).

Ebenfalls zerstört Cadmium die in der Tubuluswand zu lokalisierende Blut-Hodenschranke (Setchell, Vogelmayr und Waites 1969; Setchell und Waites 1970; Johnson 1970). Cadmiumionen können damit frühzeitig in die Tubulusepithelien eindringen.

Sie werden vornehmlich von Spermatogonien und elongierten Spermatiden, nicht aber von fertigen Spermien aufgenommen (Lee und Dixon 1973). Damit ist ein direkter Angriff der Cadmiumionen auch am Tubulusepithel möglich.

Bei den zitierten Untersuchungen lagen die verwandten Dosierungen hauptsächlich zwischen 3 mg und 10 mg CdCl_2/kg Körpergewicht. Daher traten die beschriebenen hämorrhagischen Nekrosen schnell ein und überdeckten so die mögliche direkte Wirkung der Cadmiumionen auf die Tubulusepithelien durch eine nach Schädigung der Gefäße ischämisch bedingte Alteration. Um die direkte Cadmiumwirkung auf diese Strukturen darzustellen, muß also eine Grenzkonzentration gefunden werden, die diese hämorrhagischen Nekrosen gar nicht oder erst sehr viel später und in geringerem Ausmaß entstehen läßt.

Unter derartigen Bedingungen soll nun das Verhalten der Spermatogenesezellen und der sie versorgenden Sertolizellen beobachtet werden.

Die Versorgungsfunktion der Sertolizellen kann geprüft werden anhand der enzymhistochemischen Darstellung der Thiaminpyrophosphatase, die als Leitenzym für den Golgiapparat dient. Die Aktivitäten dieses Enzyms stellen ein Maß dar für den Funktionszustand des Golgiapparates und damit für die Intensität der Sekretionsvorgänge in den Sertolizellen (Allen und Slater 1959 und 1961; Vilar, del Cerro und Mancini 1962; Dym und Fawcett 1970; Lojda, Gossrau und Schiebler 1976). Unter Versuchsbedingungen muß besonders die Abhängigkeit der Thiaminpyrophosphatase-Aktivitäten vom jeweiligen Spermatogenesestadium berücksichtigt werden. Diese Stadienabhängigkeit bedingt schon beim Normaltier zwischen den einzelnen Tubulusquerschnitten Unterschiede im Verteilungsbild des Enzyms (Hilscher, Passia und Hilscher 1979).

Die Untersuchung der Adenosintriphosphatase bietet sich an nach einer Methode, die das weite Aufgabenspektrum dieses Enzyms in der Zelle erfaßt und sowohl ihre Myosinaktivitäten als auch ihre Aktivitäten in Mitochondrien und Membranen darstellt (Padykula und Herman 1955 a und b; Lojda, Grossrau und Schiebler 1976). Auch dieses Enzym zeigt unterschiedliche Verteilungsbilder in Abhängigkeit von den Spermatogenesestadien (Hilscher, Passia und Hilscher 1979).

VERSUCHSBESCHREIBUNG

Art der Versuchstiere

Die Wirkung verschiedener Dosis-Zeitkombinationen wurde an jeweils 4 männlichen Albinoratten (*rattus rattus*) vom Stamm Wistar untersucht. Die Tiere waren geschlechtsreif und wogen zwischen 250 und 350 g.

Applikation des Cadmiums

Die CdCl_2 -Dosen waren abgestuft auf 1,25 mg, 0,94 mg, 0,63 mg und 0,32 mg CdCl_2 /kg Körpergewicht. Wie die Cadmiumbelastung wurde auch die Volumenbelastung durch die als Lösungsmittel verwendete physiologische Kochsalzlösung proportional dem Körpergewicht bemessen: 1 mg CdCl_2 war in 1 ml Volumen gelöst. So wurde ein möglicher Einfluß des Injektionsvolumens auf den Kreislauf unter den Versuchstieren konstant gehalten und damit als mögliche Fehlerquelle eliminiert.

Eine weitere mögliche Beeinflussung durch die Tagesrhythmik im Enzymmuster der Tiere wurde dadurch ausgeschlossen, daß alle Tiere morgens zwischen 8 °° und 9 °° Uhr gespritzt wurden.

Der Applikationsweg spielt vor allem bei Kurzzeitversuchen mit Cadmium eine Rolle (Johnson, Gomes und Van Demark 1970; Johnson und Miller 1970; Gunn und Gould zusammenfassend 1970). Daher wurde darauf geachtet, daß streng intraperitoneale Injektionen gewährleistet waren. Zur Erleichterung der Injektion wurden die Tiere mit Äther betäubt. Eine intravasale Applikation wurde durch Aspirieren vor, eine subcutane Applikation durch Palpieren des betreffenden Gewebsbereiches nach Injektion der Lösungen ausgeschlossen.

Tötung der Tiere

Die Tötung der Tiere erfolgte ebenfalls mit Äther nach 6, 12, 24 und 48 Stunden.

Vorbereitung der Gewebe

Während der Verarbeitung des Tiermaterials bis zum Ablaufen der histochemischen Reaktionen mußten die Verluste an Enzymaktivitäten möglichst gering gehalten werden.

Direkt nach Präparation und Entnahme wurden die Hoden in eine Haushaltsfolie gehüllt und in flüssigem Stickstoff eingefroren innerhalb maximal 5 Minuten. Die Verwendung von flüssigem Stickstoff als Gefriermittel schloß die Ausbildung von Gefrierschäden bei zu langsamen Erreichen tiefer Temperaturen aus. Einwickeln der Hoden in die Folie sollte ein Zerspringen beim Schockgefrieren vermeiden.

Die Gewebsblöcke wie die fertigen Schnitte wurden bei - 80° C aufbewahrt. Um dennoch keine Verluste in den Enzymaktivitäten in Kauf zu nehmen, dauerte bei jedem Versuch der gesamte Verarbeitungsvorgang einschließlich des Schneidens im Kryostaten und der Durchführung der histochemischen Reaktionen nicht länger als 4 Tage.

Histochemische Reaktionen

Die Aktivitäten der Thiaminpyrophosphatase wurden nach einer von Allen und Slater angegebenen Calcium-Kobaltmethode untersucht. Zusatz von L-Cystein blockierte eine Mitreaktion der alkalischen Phosphatase (Allen und Slater 1959 und 1961; Pearse 1972; Lojda, Gossrau und Schiebeler 1976). Die Inkubationszeit betrug 15 Minuten.

Die Adenosintriphosphatase-Aktivitäten wurden über eine Calcium-Kobaltmethode nach Padykula und Herman dargestellt, ebenfalls unter Blockierung der alkalischen Phosphatase durch L-Cystein (Padykula und Herman 1955 a und b; Lojda, Grossrau und Schiebler 1976). Die Inkubationszeit betrug hier 30 Minuten.

Zur besseren Übersicht wurde nach beiden Reaktionen jeweils ein Teil der Schnitte mit Hämatoxylin gegengefärbt. Diese Schnitte wurden 10 Minuten länger inkubiert, um ein bei der zusätzlichen Kernfärbung nicht zu vermeidendes leichtes Auswaschen der Reaktionsprodukte zu kompensieren.

Auswertung

Bei der Auswertung der Präparate erwies sich die Ausdehnung der Reaktionszonen der TPP-ase in den Golgifeldern der pachytänen Spermatozyten als ein sehr empfindlich auf die CdCl_2 -Intoxikation reagierender Parameter. Daher wurden die Flächen dieser Strukturen bestimmt in Tubuli jeweils des gleichen Stadiums XII.

Diese Messungen erfolgten mit dem elektronischen Bildanalyse-system A.S.M. der Firma Leitz (Wetzlar). Pro Tier wurden die Flächen der Thiaminpyrophosphatase-aktiven Zonen in 200-300 Golgifeldern pachytäner Spermatozyten des Stadiums XII bestimmt, und hieraus Mittelwert und Standardabweichung für jedes Tier errechnet.

Die so gewonnenen Ergebnisse wurden statistisch überprüft auf den Signifikanzniveaus $\alpha_1 = 0,05$ und $\alpha_2 = 0,01$. Da die für den t-Test nach der Student-Verteilung notwendige Voraussetzung gleicher Varianzen des untersuchten Parameters in der Kontroll- wie in den Versuchsgruppen nicht sicher gegeben war, wurde hierzu eine Modifikation der Teststatistik benutzt (Welch 1937 und 1947).

Abb. 1): K o n t r o l l t i e r

TPP-ase-Reaktion in einem Tubulus des Stadiums I/II
(Obj. 10).

- a) Sertolizellen
- b) runde Spermatiden
- c) TPP-ase-Aktivitäten in der Gefäßintima

Abb. 2): K o n t r o l l t i e r

TPP-ase-Reaktion mit Gegenfärbung durch Hämatoxylin
(Obj. 10).

In einem Tubulus des Stadiums XII TPP-ase-aktive
Reaktionszonen der Golgifelder in den pachytänen
Spermatozyten.

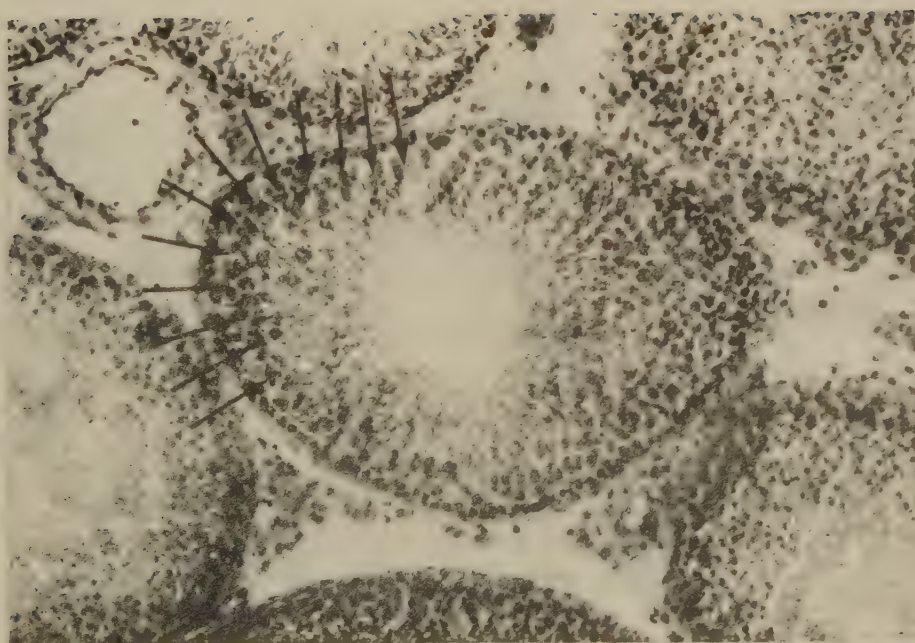
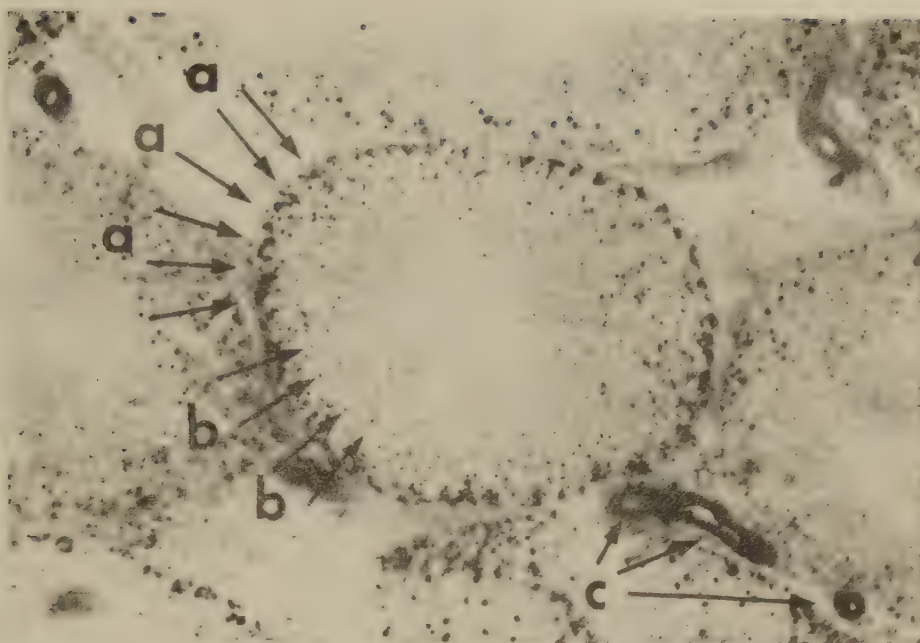


Abb. 3): K o n t r o l l t i e r

TPP-ase-Reaktion mit Gegenfärbung durch Hämatoxylin
(Obj. 100).

In einem Tubulus des Stadiums XII TPP-ase-aktive
Reaktionszonen der Golgifelder in den pachytänen
Spermatozyten.

Abb. 4): K o n t r o l l t i e r

ATP-ase-Reaktion in einem Tubulus des Stadiums VII
(Obj. 10).

- a) Aktivitäten der ATP-ase in den lumennahen
Bereichen der Sertolizellen.
- b) Boundary tissue.
- c) Aktivitäten in Intima und Media der Gefäße.

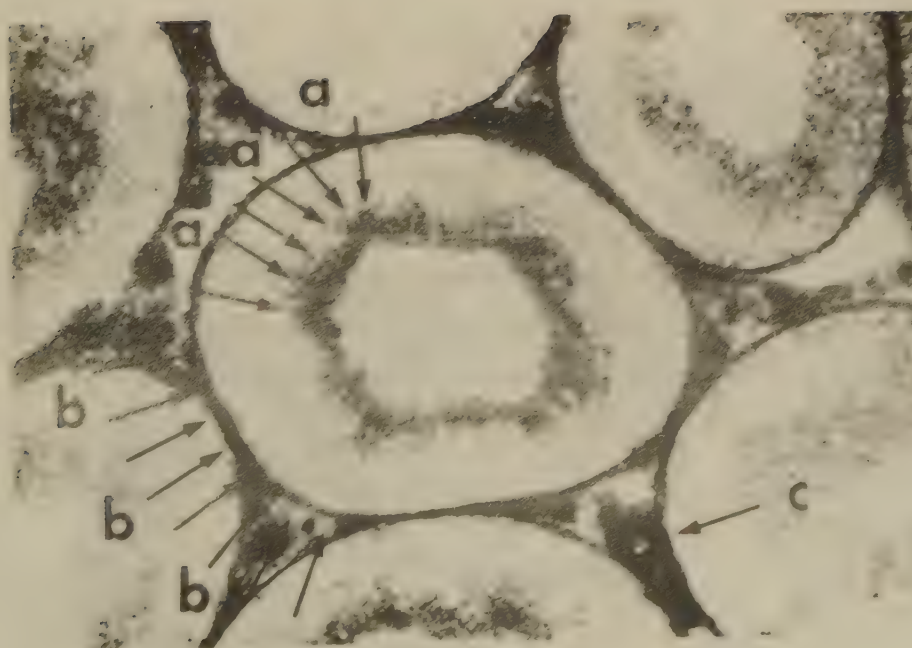
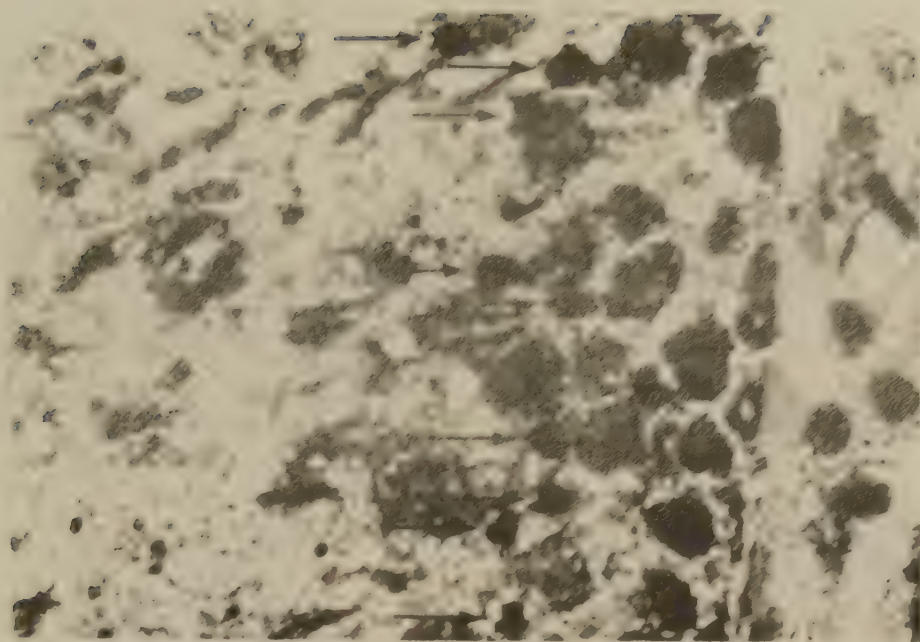


Abb. 5): V e r s u c h s t i e r 6 Stunden nach 1,25 mg
 CdCl_2 /kg Körpergewicht (Obj. 10).

TPP-ase-Reaktion in einem Tubulus des Stadiums I/II
mit Ausfall der Aktivitäten in den Sertolizellen
eines Tubulussektors.

Abb. 6): V e r s u c h s t i e r 12 Stunden nach 1,25 mg
 CdCl_2 /kg Körpergewicht (Obj. 10).

ATP-ase-Reaktion in einem Tubulus des Stadiums VIII/
IX mit ATP-ase-positiven Verdichtungen um degenerie-
rende Zellen des Tubulusepithels.

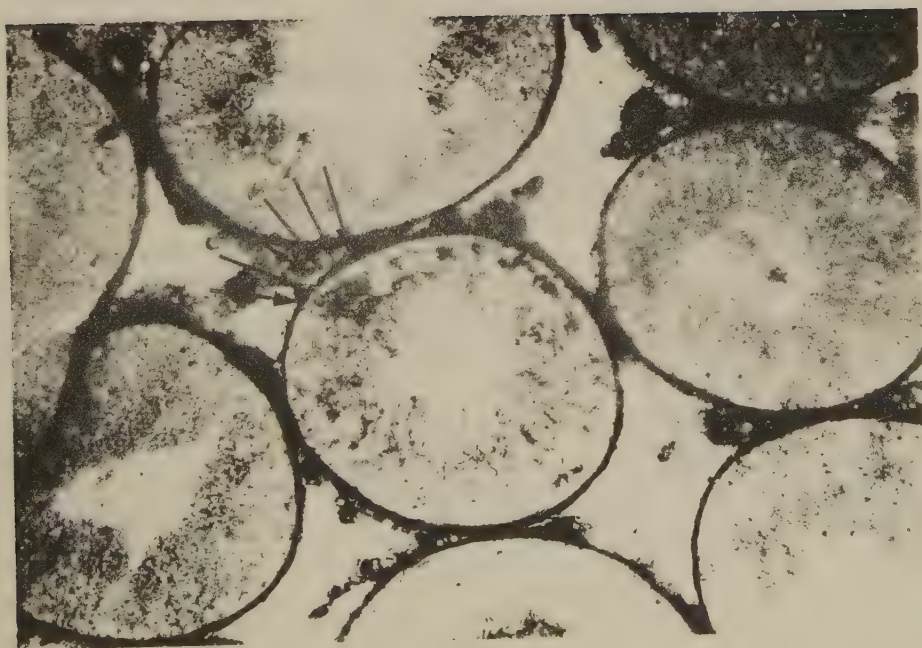
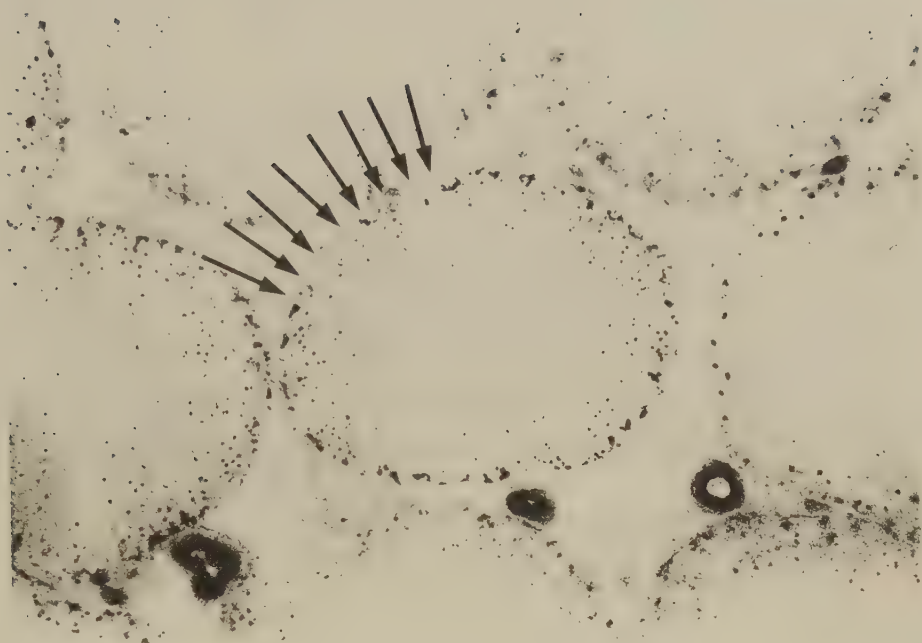


Abb. 7): V e r s u c h s t i e r 48 Stunden nach 1,25 mg CdCl_2 /kg Körpergewicht (Obj. 10).
TPP-ase-Reaktion in einem Tubulus des Stadiums XII mit Hämatoxylin-Gegenfärbung:
Völliger Ausfall der Aktivitäten in den basalen Sertolizellbereichen, Abschwächung in der Gefäßintima. Die Reaktionszonen der Golgifelder in den Spermatozyten sind unscharf begrenzt und deutlich vergrößert.

Abb. 8): V e r s u c h s t i e r 48 Stunden nach 1,25 mg CdCl_2 /kg Körpergewicht (Obj. 100).
TPP-ase-Reaktion mit Hämatoxylin-Gegenfärbung:
In einem Tubulus des Stadiums XII unscharf begrenzte und deutlich vergrößerte Reaktionszonen der Golgifelder in den Spermatozyten.

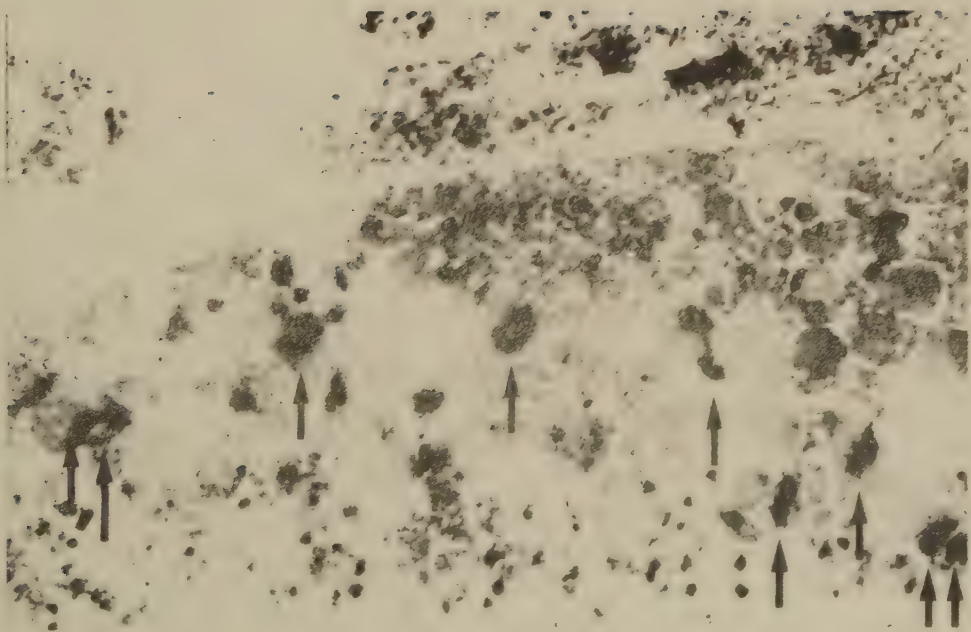
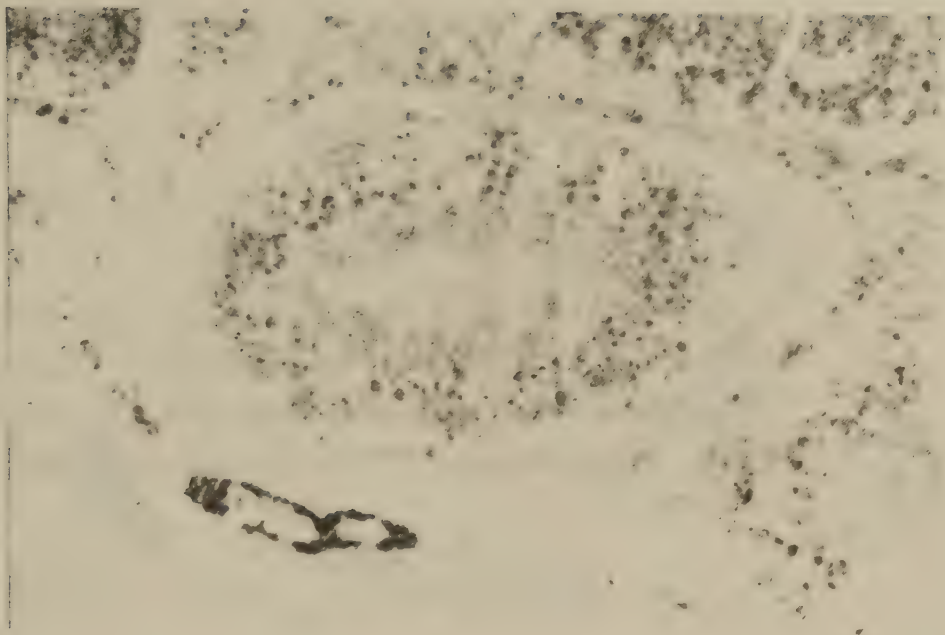
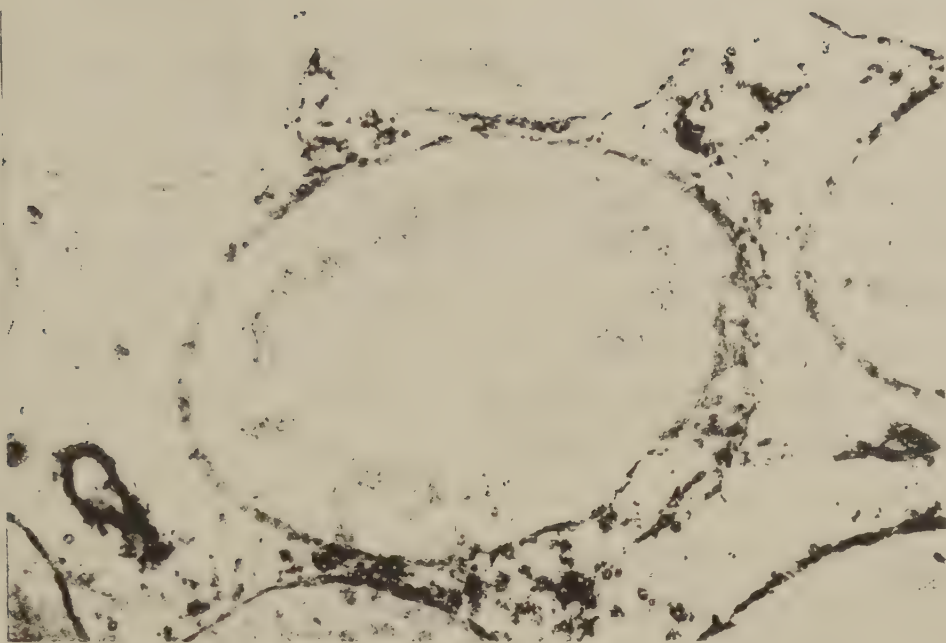


Abb. 9): V e r s u c h s t i e r 48 Stunden nach 1,25 mg CdCl_2 /kg Körpergewicht (Obj. 10).

ATP-ase-Reaktion in einem Tubulus des Stadiums VII mit Gegenfärbung durch Hämatoxylin: Nekrose des Tubulusepithels mit Auflösung des Zellverbandes. Die Aktivitäten der ATP-ase sind allgemein abgeschwächt.



ERGEBNISSE

Kontrolltiere

Die TPP-ase-Reaktion markiert beim Normaltier die Golgifelder der Sertolizellen mit Ausnahme der Stadien V bis X, wobei deren Kerne mit feinen Fahnen ausgefällter Reaktionsprodukte umgeben werden. Im Bereich der Golgifelder der pachytänen Spermatozyten stellen sich die Reaktionszonen der TPP-ase scharf und annähernd rund umgrenzt dar mit größter Ausdehnung im Stadium XII. Aktivitäten zeigen ebenfalls die Akrosombereiche der runden Spermatiden in den frühen Stadien bis VII. Von den Strukturen des interstitiellen Bindegewebes reagiert die Intima der Venen nur schwach, die Intima der Arterien jedoch deutlich TPP-ase-positiv.

Die ATP-ase-Reaktion zeigt normalerweise Aktivitäten in der Intima und der Muskulatur der Gefäße, über dem boundary tissue, das als Grenzstruktur das Tubulusepithel umgibt, und im lumennahen Bereich der Sertolizellen in den Stadien VI und VII.

1,25 mg CdCl₂/kg Körpergewicht

48 S t u n d e n nach Gabe dieser Dosis zeigt sich das Schädigungsbild der Cadmiumionen am Rattenhoden in voller Ausprägung:

Ein starkes Ödem hat das Interstitium verbreitert. Nekrotische, aufgequollene Zellen des Samenepithels füllen das Tubulusinnere. Hämorrhagien im gefäßführenden Bindegewebe sind jedoch bei dieser Konzentration schon nicht mehr zu beobachten.

Die ATP-ase-Aktivitäten sind über allen sich normalerweise darstellenden Strukturen abgeschwächt.

Die Aktivitäten der TPP-ase basal in den Sertolizellen sind verschwunden, ihre Aktivitäten in der Gefäßintima haben nachgelassen. Bei noch erhaltenen Aktivitäten in den Golgifeldern der pachytänen Spermatozyten und den Akrosombereichen der runden Spermatiden sind die Reaktionszonen der TPP-ase unscharf begrenzt und weit über das normale Maß ausgedehnt. Die Reaktionsbereiche erscheinen hier auseinandergelaufen wie Farbkleckse.

Die zu diesem Vollbild führenden Schäden treten zeitlich wie folgt auf:

Nach 6 S t u n d e n zeigt die TPP-ase erste sektorenförmige Ausfälle ihrer Aktivitäten in den basalen Bereichen der Sertolizellen entsprechender Stadien. Gleichzeitig haben sich auch die Reaktionszonen im Bereich der Golgifelder der Spermatogenezellen in diesen Sektoren verändert. Sie sind unscharf begrenzt und erscheinen wie auseinandergelaufen. Ein mäßiges Ödem ist aufgetreten.

Nach 12 S t u n d e n sind von den TPP-ase-Aktivitäten basal über den Sertolizellen nur noch Spuren zu erkennen. Mit einzelnen Zellnekrosen im basalen Bereich des Tubulusepithels beginnend, wie sie bei einem Tier auch schon nach 6 Stunden aufgetreten waren, breiten sich Zonen hydropisch degenerierter Zellen keilförmig zum Lumen hin begrenzt aus. Es fällt auf, daß diese Degenerationen bevorzugt Gruppen benachbarter Tubuli in einander gegenüberliegenden Sektoren befallen, die dann jeweils einen Zwickel gefäßführenden Bindegewebes zwischen sich einschließen.

Die ATP-ase zeigt zu dieser Zeit noch keine Abschwächungen. Im Bereich der beschriebenen Degenerationen finden sich sogar hohe ATP-ase-Aktivitäten um die untergehenden Spermiogenezellen. Diese abnormen ATP-ase-Aktivitäten erscheinen in Stadien und Bereichen der Sertolizellen, die normalerweise negativ bleiben.

Nach 24 u n d 48 S t u n d e n nekrotisieren schließlich sämtliche Tubuli eines Hodenquerschnitts wie oben beschrieben.

Erst jetzt läßt die TPP-ase-positive Reaktion der Gefäßintima nach.

Auch die ATP-ase zeigt nun eine offensichtliche Abschwächung ihrer Aktivitäten. Schon früher auftretende Veränderungen im Erscheinungsbild der durch die ATP-ase markierten Gefäße und des boundary tissue rühren von einer ödematösen Quellung dieser Strukturen her. In weniger vom Ödem befallenen Bereichen der Hodenquerschnitte läßt sich eine solche Ausdünnung der Reaktionsprodukte nicht beobachten.

0,94 mg CdCl₂/kg Körpergewicht

Bei dieser geringeren Dosis treten gleichartige Schädigungen deutlich später auf.

Nach 6 u n d 12 S t u n d e n zeigen sich noch keinerlei histologische Veränderungen oder Störungen der geprüften Enzymaktivitäten.

Erst nach 24 S t u n d e n treten Ausfälle basal über den Sertolizellen in der TPP-ase-Reaktion auf. In den pachytänen Spermatozyten werden die Umgrenzungen der TPP-ase-aktiven Zonen der Golgifelder unscharf, und die Reaktionsbereiche weiten sich aus. Ganz spärlich und nur bei zwei Tieren sind schon jetzt einzelne Zellnekrosen zu beobachten. Diese Areale sind teils stärker, teils schwächer ATP-ase-positiv.

Neben dem bei 0,94 mg CdCl₂/kg deutlich späteren Einsetzen dieser Veränderungen und der geringeren Ausprägung gegenüber der nur wenig höheren Dosis von 1,25 mg/kg fällt hier auch der unter den Versuchstieren im weiten Bereich schwankende Grad der Schädigungen auf. So reicht nach 48 S t u n d e n 0,94 mg/kg die Ausprägung der Cadmiumwirkung von totalen Tubulusnekrosen bei einem Tier über noch weitgehend intakte Hoden bei zwei Tieren bis zu einem unter den untersuchten Gesichtspunkten völlig normal erscheinenden Tier.

0,63 mg CdCl₂/kg Körpergewicht

Nach 24 S t u n d e n zeigen die Versuchstiere noch keine Veränderung der untersuchten histologischen und histochemischen Gesichtspunkte.

Nach 48 S t u n d e n hat die Ausdehnung der Reaktionszonen der TPP-ase in den Golgifeldern der pachytänen Spermatozyten geringgradig zugenommen. Nur ein Tier zeigte die bei höheren Konzentrationen beobachteten Nekrosen.

0,32 mg CdCl₂/kg Körpergewicht

Diese Konzentration läßt auch nach 48 Stunden keine Veränderungen mehr entstehen.

Die beschriebenen Ergebnisse zeigen:

1. Als erste Störung im Verteilungsbild der untersuchten Enzyme fallen die Aktivitäten der Thiaminpyrophosphatase in den Sertolizellen sektorenweise aus. Dies läßt auf eine Funktionsstörung ihrer Golgiapparate schließen.
2. Von den Spermatogenesezellen selbst zeigen als erste die Spermatozyten Veränderungen in den betroffenen Sektoren. Die Begrenzung der Thiaminpyrophosphatase-aktiven Zonen in ihren Golgifeldern wird unscharf, und die Reaktionsbereiche weiten sich aus, wobei die Aktivität des Enzyms hier erhalten bleibt.
3. Diese Vorgänge leiten degenerative und typischerweise mit Adenosintriphosphatase - positiven Verdichtungen umgebene Veränderungen ein und führen schließlich zur Nekrose des Tubulusepithels.

Die Veränderung in der Ausdehnung und in der Abgrenzung der Thiaminpyrophosphatase-Reaktionszonen in den Golgifeldern der Spermatozyten ist also ein Indikator für eine Schädigung der Spermatogenesezellen durch CdCl₂. Dieser Effekt ist in diskreter Ausprägung auch bei Tieren noch nachzuweisen, deren Cadmiumbelastung zu gering war, um nach 48 Stunden Beobachtungszeit degenerative Veränderungen in der Histologie des Tubulusepithels nach sich zu ziehen. So weisen die Tiere nach 48 Stunden 0,63 mg CdCl₂/kg Körpergewicht solche - wenn auch sehr leichte - Veränderungen in Ausdehnung und Abgrenzung der Thiaminpyrophosphatase-aktiven Zonen in den Golgifeldern der pachytänen Spermatozyten auf. Nur eines bildete jedoch die beschriebenen Nekrosen mit hydropisch degenerierten Tubulusepithelien aus.

Bei der Beurteilung derart diskreter Veränderungen in den Grenzbereichen der Cadmiumwirkung ergab sich für den Betrachter die Schwierigkeit, eben beginnende Ausweitungen der TPP-ase-positiven Reaktionszonen zu erkennen. Eine Entscheidung konnte hier nur durch Ausmessen der Flächen einer statistisch relevanten Anzahl dieser Reaktionszonen erreicht werden. Dieses Verfahren stellt damit ein Hilfsmittel dar, die bei bloßem Betrachten der Präparate in den fraglichen Dosis-Zeitkombinationen unvermeidliche Unsicherheit durch die natürlich vorhandene Variationsbreite zu umgehen, und trotz der geringen Ausmaße dieser ja schon im subzellularen Bereich liegenden Strukturen auch geringfügige Veränderungen aufzudecken.

1,25 mg CdCl₂/kg Körpergewicht

Bei Kontrolltieren und Versuchstieren wurden die Flächen der TPP-ase-aktiven Zonen der Golgifelder in den pachytänen Spermatozyten des Stadiums XII ausgemessen.

Tabelle 1 zeigt die Mittelwerte und Standardabweichungen von 200 - 300 Einzelmessungen je Tier.

Kontrollen

$$15,1 \mu^2 \pm 2,9 \mu^2$$

$$15,5 \mu^2 \pm 3,5 \mu^2$$

$$14,7 \mu^2 \pm 2,8 \mu^2$$

$$15,8 \mu^2 \pm 3,7 \mu^2$$

Versuchstiere nach 6 Stunden

$$18,0 \mu^2 \pm 4,5 \mu^2$$

$$16,8 \mu^2 \pm 3,2 \mu^2$$

$$17,8 \mu^2 \pm 4,2 \mu^2$$

$$15,5 \mu^2 \pm 4,0 \mu^2$$

Die erhaltenen Mittelwerte sind signifikant verschieden von denen der Kontrolltiere ($p < 0,05$).

Versuchstiere nach 12 Stunden

$$22,4 \mu^2 \pm 7,5 \mu^2$$

$$23,8 \mu^2 \pm 7,5 \mu^2$$

$$24,0 \mu^2 \pm 7,6 \mu^2$$

$$23,6 \mu^2 \pm 7,7 \mu^2$$

Die erhaltenen Mittelwerte sind signifikant verschieden von denen der Kontrolltiere ($p < 0,01$).

Versuchstiere nach 24 Stunden

$$26,1 \mu^2 \pm 10,9 \mu^2$$

$$23,5 \mu^2 \pm 9,1 \mu^2$$

$$26,6 \mu^2 \pm 9,4 \mu^2$$

$$26,8 \mu^2 \pm 9,8 \mu^2$$

Die erhaltenen Mittelwerte sind signifikant verschieden von denen der Kontrolltiere ($p < 0,01$).

Versuchstiere nach 48 Stunden

$$30,8 \mu^2 \pm 15,9 \mu^2$$

$$32,4 \mu^2 \pm 15,0 \mu^2$$

$$27,3 \mu^2 \pm 9,7 \mu^2$$

$$33,6 \mu^2 \pm 17,1 \mu^2$$

Die erhaltenen Mittelwerte sind signifikant verschieden von denen der Kontrolltiere ($p < 0,01$).

Abb. 10): Mittelwerte und Standardabweichungen

der ausgemessenen TPP-ase-aktiven Bereiche
bei Kontrolltieren und 1,25 mg CdCl₂/kg-Versuchstieren.

Neben der Zunahme der Einzelflächen erhöhen sich besonders auch die Standardabweichungen, die ein Maß für die Streuung der bei dem jeweiligen Tier gemessenen Einzelwerte um den Mittelwert darstellen

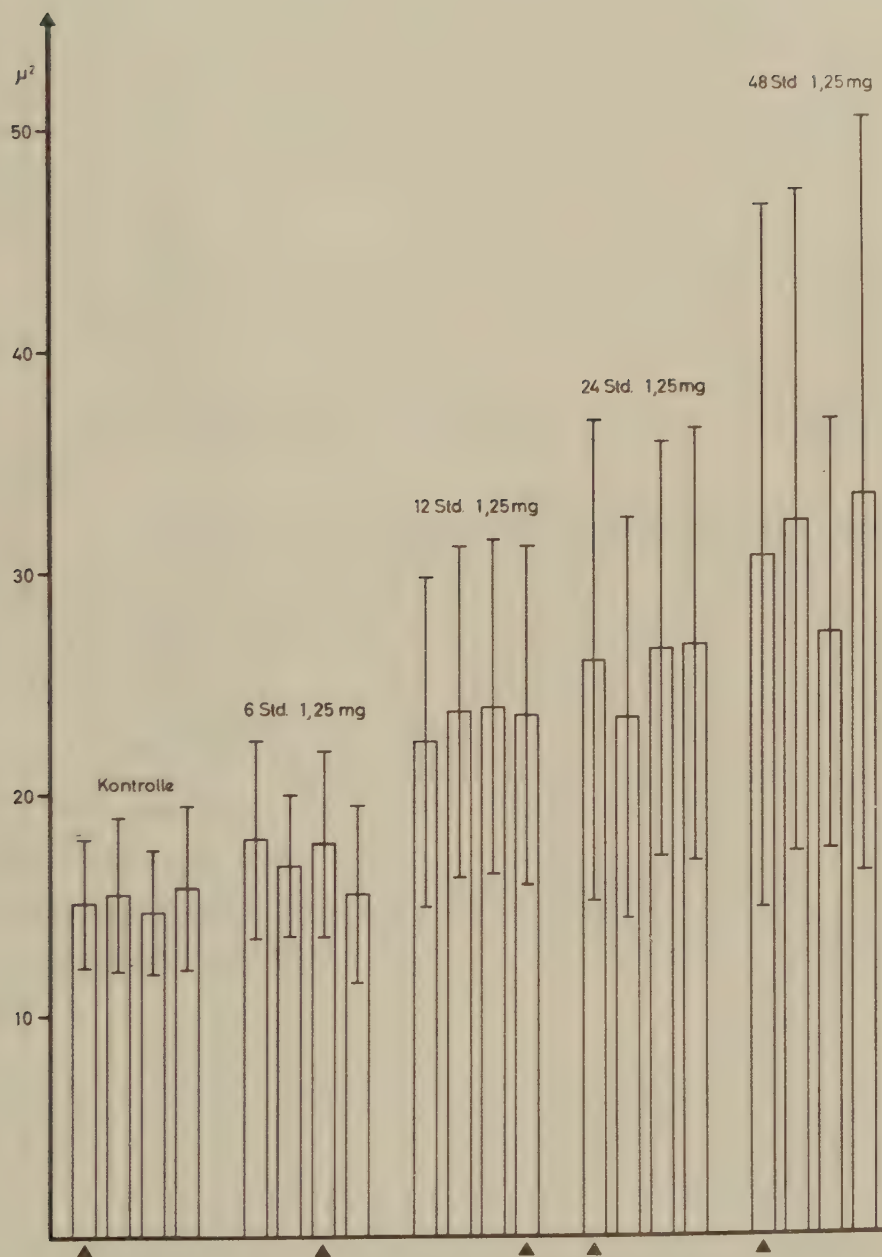
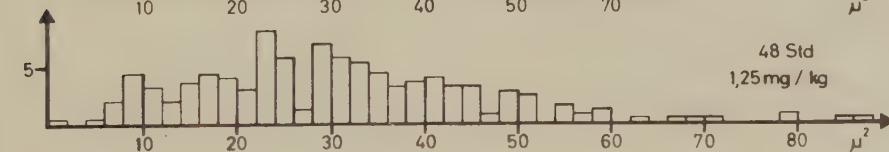
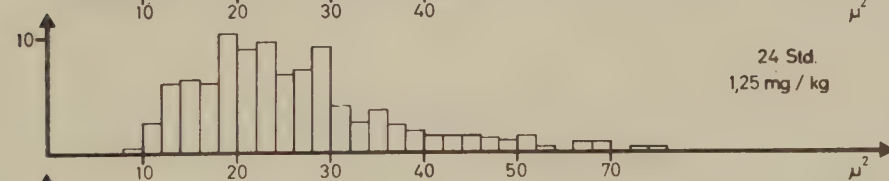
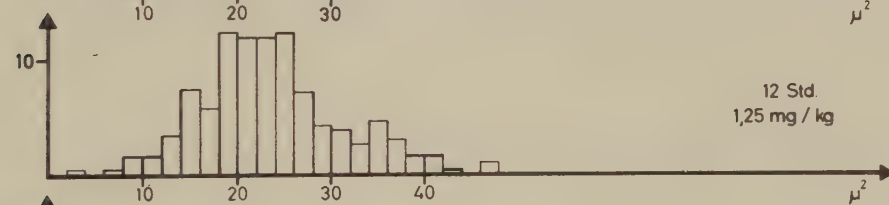
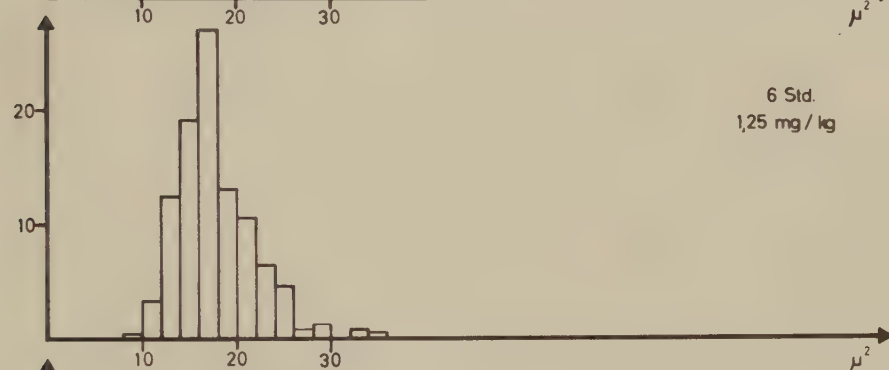
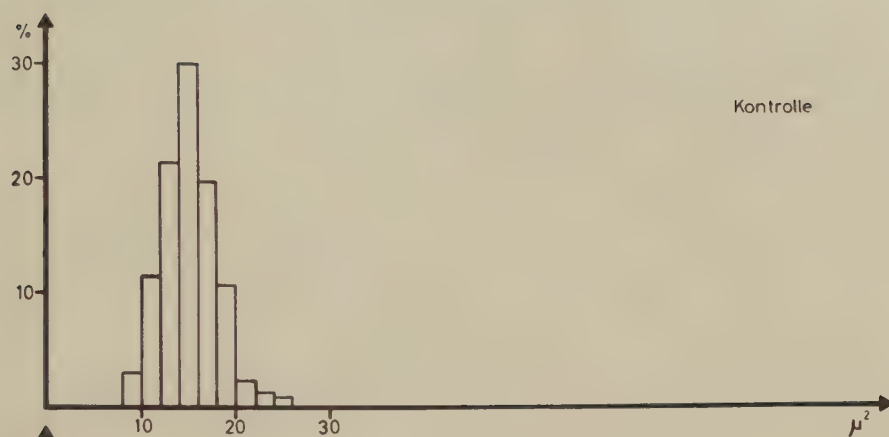


Abb. 11): Relative Häufigkeitsverteilung

der gemessenen Einzelflächen am Beispiel eines Kontrolltieres und jeweils eines 1,25 mg CdCl_2/kg -Versuchstieres nach 6, 12, 24 und 48 Stunden (in Abb. 10 mit einem Pfeil markiert).

Der Vergleich der Kurven zeigt, daß bei längeren Versuchszeiten neben noch normalen Golgifeldern zunehmend erhöhte Flächenmaße auftreten.



0,94 mg CdCl₂/kg Körpergewicht

Bei Kontrolltieren und Versuchstieren wurden die Flächen der TPP-ase-aktiven Zonen der Golgifelder in den pachytänen Spermatozyten des Stadiums XII ausgemessen.

Tabelle 2 zeigt die Mittelwerte und Standardabweichungen von 200 - 300 Einzelmessungen je Tier.

Kontrollen

$$15,1 \mu^2 \pm 2,9 \mu^2$$

$$15,5 \mu^2 \pm 3,5 \mu^2$$

$$14,7 \mu^2 \pm 2,8 \mu^2$$

$$15,8 \mu^2 \pm 3,7 \mu^2$$

Versuchstiere nach 6 Stunden

$$16,1 \mu^2 \pm 3,4 \mu^2$$

$$17,2 \mu^2 \pm 3,7 \mu^2$$

$$18,7 \mu^2 \pm 3,8 \mu^2$$

$$16,8 \mu^2 \pm 4,3 \mu^2$$

Die erhaltenen Mittelwerte sind signifikant verschieden von denen der Kontrolltiere ($p < 0,01$).

Versuchstiere nach 12 Stunden

$$19,7 \mu^2 \pm 4,4 \mu^2$$

$$18,1 \mu^2 \pm 3,8 \mu^2$$

$$17,2 \mu^2 \pm 3,5 \mu^2$$

$$20,4 \mu^2 \pm 5,5 \mu^2$$

Die erhaltenen Mittelwerte sind signifikant verschieden von denen der Kontrolltiere ($p < 0,01$).

Versuchstiere nach 24 Stunden

$$17,8 \mu^2 \pm 4,8 \mu^2$$

$$19,0 \mu^2 \pm 5,0 \mu^2$$

$$18,7 \mu^2 \pm 5,1 \mu^2$$

$$19,9 \mu^2 \pm 5,8 \mu^2$$

Die erhaltenen Mittelwerte sind signifikant verschieden von denen der Kontrolltiere ($p < 0,01$).

Versuchstiere nach 48 Stunden

$$19,7 \mu^2 \pm 7,6 \mu^2$$

$$23,7 \mu^2 \pm 11,6 \mu^2$$

$$26,8 \mu^2 \pm 12,1 \mu^2$$

$$18,7 \mu^2 \pm 4,8 \mu^2$$

Die erhaltenen Mittelwerte sind signifikant verschieden von denen der Kontrolltiere ($p < 0,05$).

Abb. 12): Mittelwerte und Standardabweichungen

der ausgemessenen TPP-ase-aktiven Bereiche bei Kontrolltieren und 0,94 mg CdCl_2 /kg-Versuchstieren

Im Vergleich zu der höheren CdCl_2 -Konzentration setzen hier die Veränderungen verzögert ein.

Das Ausmaß der Schäden nach 48 Stunden variiert schließlich in einem weiten Bereich.

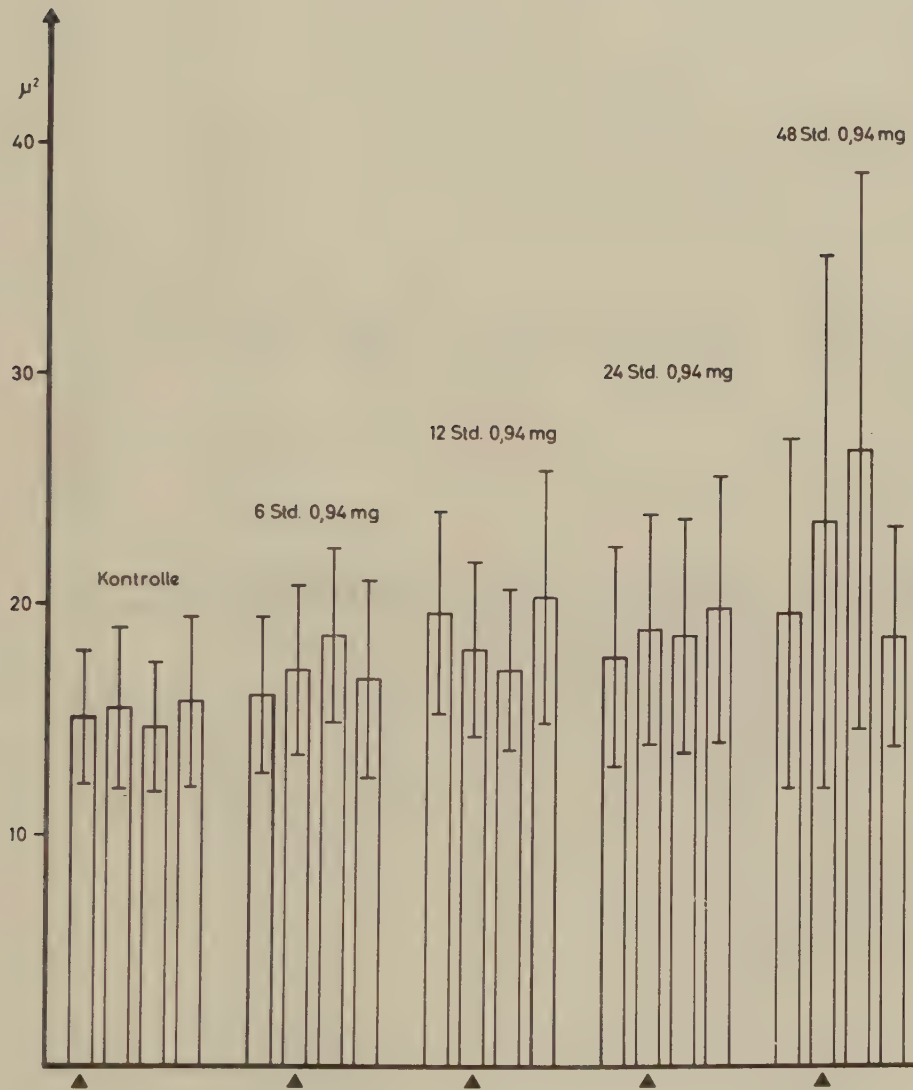
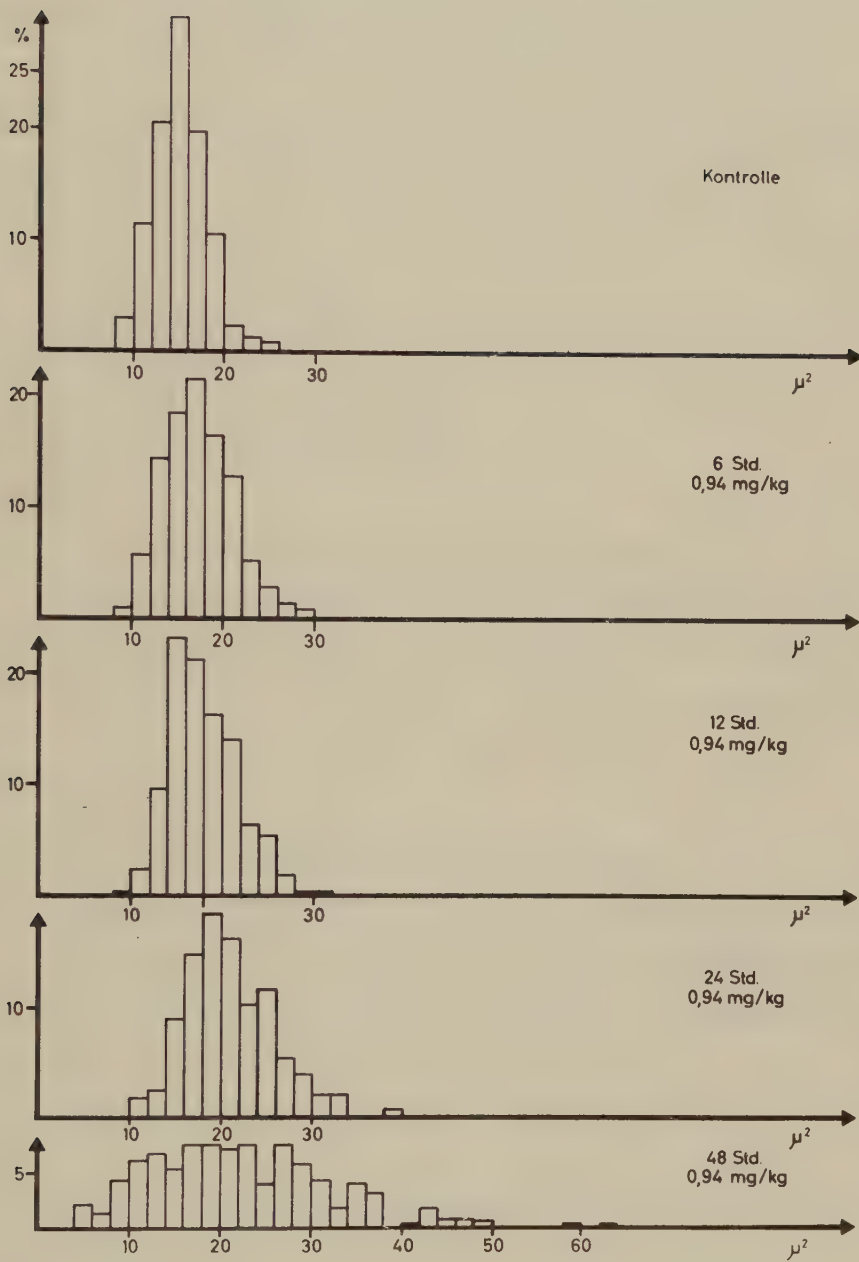


Abb. 13): Relative Häufigkeitsverteilung

der gemessenen Einzelflächen am Beispiel eines Kontrolltieres und jeweils eines 0,94 mg CdCl₂/kg-Versuchstieres nach 6, 12, 24 und 48 Stunden (in Abb. 12 mit einem Pfeil markiert).



0,63 mg CdCl₂/kg Körpergewicht

Bei Kontrolltieren und Versuchstieren wurden die Flächen der TPP-ase-aktiven Zonen der Golgifel der in den pachytänen Spermatozyten des Stadiums XII ausgemessen.

Tabelle 3 zeigt die Mittelwerte und Standardabweichungen von 200 - 300 Einzelmessungen je Tier:

Kontrollen

$$15,1 \mu^2 \pm 2,9 \mu^2$$

$$15,5 \mu^2 \pm 3,5 \mu^2$$

$$14,1 \mu^2 \pm 2,8 \mu^2$$

$$15,8 \mu^2 \pm 3,7 \mu^2$$

Versuchstiere nach 24 Stunden

$$15,0 \mu^2 \pm 3,5 \mu^2$$

$$14,8 \mu^2 \pm 3,9 \mu^2$$

$$15,3 \mu^2 \pm 3,3 \mu^2$$

$$15,1 \mu^2 \pm 3,7 \mu^2$$

Die erhaltenen Mittelwerte sind nicht signifikant verschieden von denen der Kontrolltiere ($p > 0,05$).

Versuchstiere nach 48 Stunden

$$20,3 \mu^2 \pm 6,9 \mu^2$$

$$16,9 \mu^2 \pm 4,1 \mu^2$$

$$15,4 \mu^2 \pm 3,8 \mu^2$$

$$13,9 \mu^2 \pm 3,7 \mu^2$$

Die erhaltenen Mittelwerte sind nicht signifikant verschieden von denen der Kontrolltiere ($p > 0,05$).

Abb. 14): Mittelwerte und Standardabweichungen

der ausgemessenen TPP-ase-aktiven Bereiche bei
Kontrolltieren und 0,63 mg CdCl₂/kg-Versuchstieren

Nach 48 Stunden zeigt sich nur noch bei einem Tier
eine Erhöhung des Mittelwertes und der Standardab-
weichung.

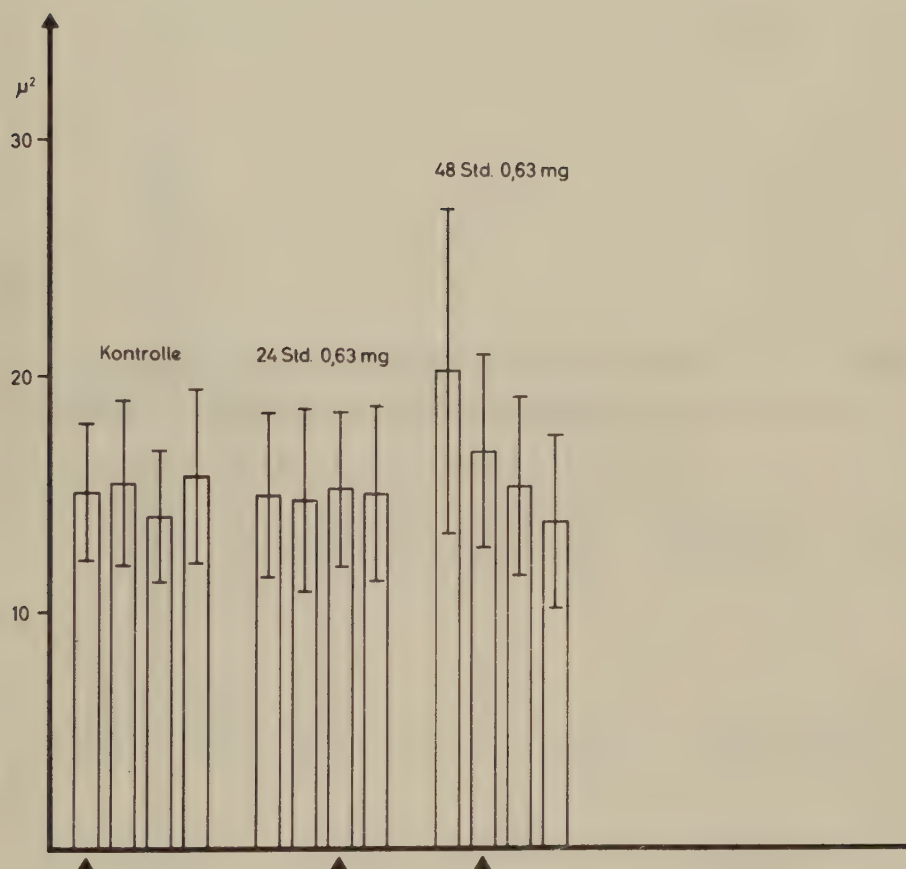
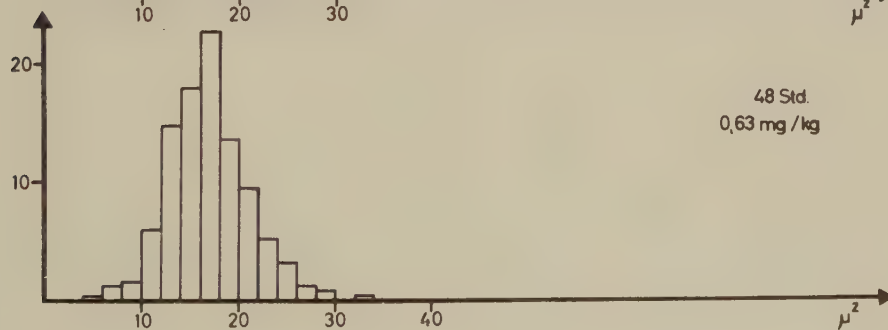
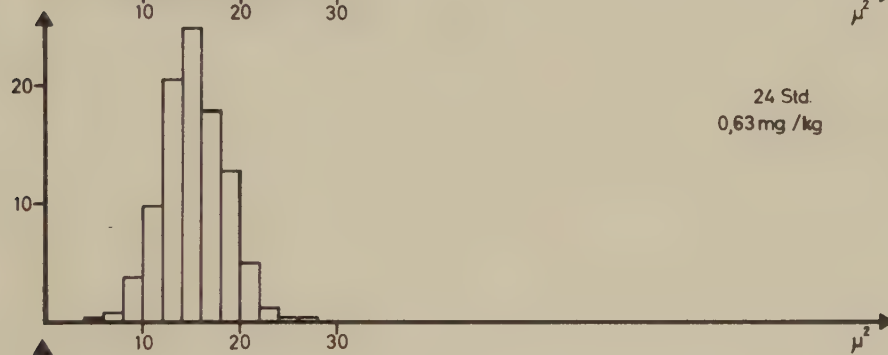
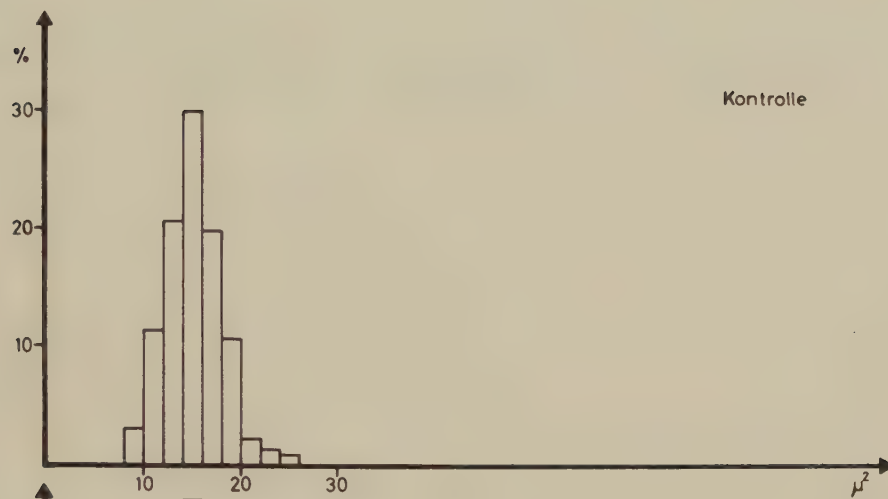


Abb. 15): Relative Häufigkeitsverteilung
der gemessenen Einzelflächen am Beispiel eines
Kontrolltieres und jeweils eines 0,63 mg CdCl₂/kg-
Versuchstieres nach 24 und 48 Stunden (in Abb. 14
mit einem Pfeil markiert).



0,32 mg CdCl₂/kg Körpergewicht

Bei Kontrolltieren und Versuchstieren wurden die Flächen der TPP-ase-aktiven Zonen der Golgifelder in pachytänen Spermatozyten des Stadiums XII ausgemessen.

Tabelle 4 zeigt die Mittelwerte und Standardabweichungen von 200 - 300 Einzelmessungen je Tier:

Kontrollen

15,1 μ^2 $\pm$ 2,0 μ^2

15,5 μ^2 $\pm$ 3,5 μ^2

14,7 μ^2 $\pm$ 2,8 μ^2

15,8 μ^2 $\pm$ 3,7 μ^2

Versuchstiere nach 48 Stunden

15,4 μ^2 $\pm$ 3,2 μ^2

13,8 μ^2 $\pm$ 2,9 μ^2

15,2 μ^2 $\pm$ 3,2 μ^2

15,3 μ^2 $\pm$ 4,0 μ^2

Die erhaltenen Mittelwerte sind nicht signifikant verschieden von denen der Kontrolltiere ($p > 0,05$).

Abb. 16): Mittelwerte und Standardabweichungen

der ausgemessenen TPP-ase-aktiven Bereiche bei
Kontrolltieren und 0,32 mg CdCl₂/kg-Versuchstieren

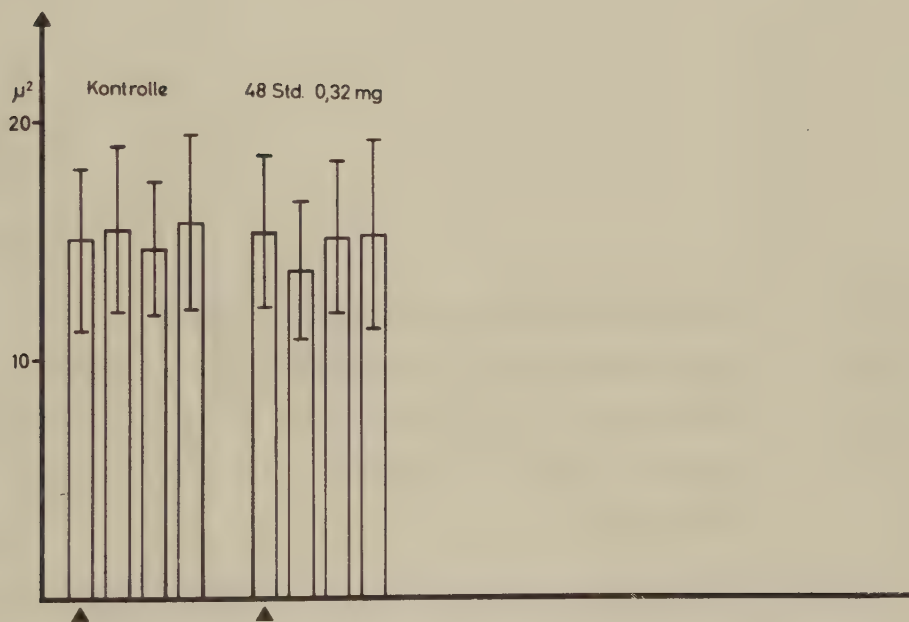
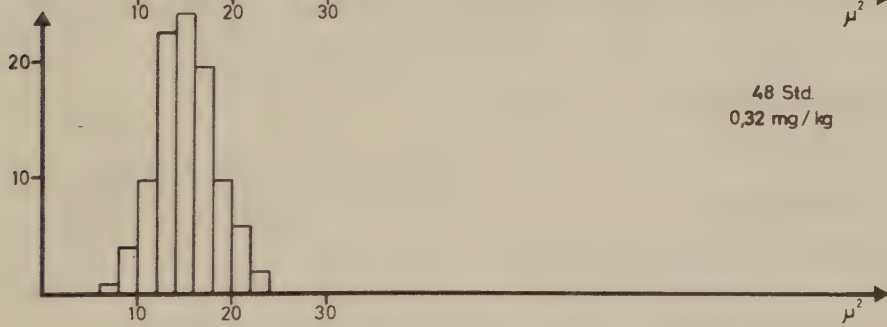
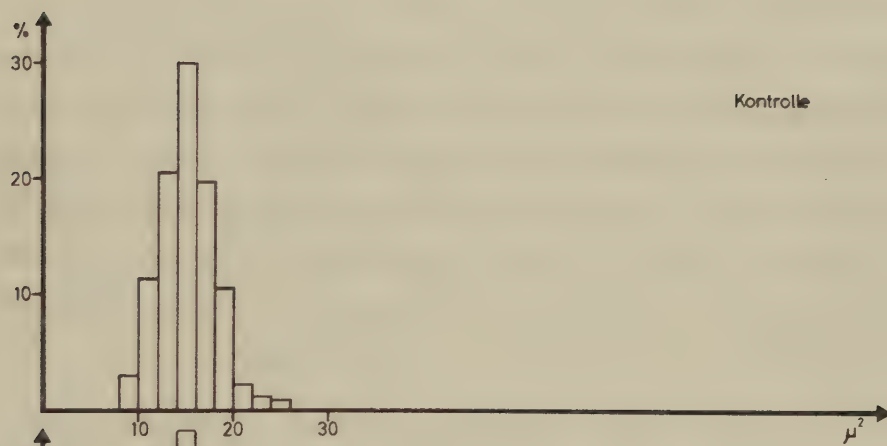


Abb. 17): Relative Häufigkeitsverteilung

der gemessenen Einzelflächen am Beispiel je eines Kontrolltieres und eines 0,32 mg CdCl₂/kg-Versuchstieres nach 48 Stunden (in Abb. 16 mit einem Pfeil markiert).

Die beiden Kurven sind nahezu deckungsgleich.



Die in den Abbildungen 10 und 11 grafisch dargestellten Ergebnisse aus Tabelle 1 wurden an Tieren mit einer Cadmiumbelastung von 1,25 mg/kg Körpergewicht gewonnen. Im Vergleich zu den Kontrolltieren zeigt sich schon nach 6 Stunden eine deutliche Erhöhung der Flächenmaße, die sich bei längeren Versuchszeiten noch weiter ausprägt. Ein weiterer zu beachtender Gesichtspunkt ist das Ausmaß der Schwankungen der Einzelflächen, vertreten durch deren Standardabweichungen. Diese Schwankungsbreite der Einzelmessungen nimmt mit der Versuchsdauer und damit parallel zum Ausmaß der Schädigungen zu. In zunehmendem Maße finden sich neben Arealen mit normal konfigurierten TPP-ase-positiven Reaktionszonen der Golgifelder solche mit deutlicher Ausweitung. In der Erhöhung der Schwankungsbreite der Einzelwerte spiegelt sich also die Inhomogenität in der Verteilung der Läsionen über den Hodenquerschnitt wider. Das angewandte Verfahren beschreibt damit genau den Ablauf der morphologischen Veränderungen in der Struktur der untersuchten Golgifelder.

Die bei den mit der niedrigeren Dosis von 0,94 mg CdCl_2 /kg Körpergewicht behandelten Tieren erhobenen Daten - siehe die Tabelle 2 mit den Abbildungen 12 und 13 - belegen zum einen das späte Einsetzen der Veränderungen, machen aber auch die Variationsbreite der schließlich nach 48 Stunden noch resultierenden Schäden klar.

Nach 48 Stunden zeigen 0,63 mg CdCl_2 /kg nur noch bei einem Tier deutliche Wirkung, bei den übrigen drei Versuchstieren auf dieser Stufe gelangen allenfalls diskrete Effekte zur Darstellung (siehe die Tabelle 3 mit den Abbildungen 14 und 15).

Bei einer Dosis von 0,32 mg CdCl_2 /kg Körpergewicht ist auch mit diesem Auswertungsverfahren keine Veränderung mehr festzustellen (siehe die Tabelle 4 mit den Abbildungen 16 und 17).

DISKUSSION

Für die Schädigung des Säugetierhodens durch Cadmiumionen werden hauptsächlich zwei Angriffspunkte verantwortlich gemacht:

1. Cadmiumionen zerstören den Zusammenhalt der Gefäßendothelien und führen über Thrombenbildung zur hämorrhagischen Hodennekrose.
2. Eine direkt schädigende Wirkung der Cadmiumionen auf das Tubulusepithel wird ebenfalls diskutiert.

Um diesen möglichen direkten Angriff des Cadmiums am Tubulusepithel aufzudecken, wurde eine untere Grenzkonzentration für eine Alteration des Hodens durch Cadmium bestimmt. Enzymhistochemische Untersuchungen der Thiaminpyrophosphatase und der Adenosintriphosphatase im Hoden adulter Wistarratten nach intraperitonealer Gabe absteigender Dosierungen ergaben:

Nach Gabe von 1,25 mg CdCl_2 /kg Körpergewicht zeigen sich noch bei allen Tieren die typischen Schädigungsbilder.

Bei 0,94 mg CdCl_2 /kg macht sich eine für diese Konzentration sehr unterschiedliche Empfänglichkeit der Versuchstiere bemerkbar. Mit der relativ geringen Anzahl der Versuchstiere entsprechenden Vorsicht kann in diesem Bereich diejenige Dosis angesetzt werden, die im Sinne einer ED_{50} bei der Hälfte der Tiere den fraglichen Effekt zeigt. Diese Annahme erklärt die starken Schwankungen im Ausprägungsgrad der Schädigungen.

Bei 0,63 mg CdCl_2 /kg findet sich nur noch ein Tier mit ausgeprägter Schädigung des Samenepithels. 0,32 mg/kg bleiben ohne Einfluß auf die untersuchten Parameter.

Die gesuchte Grenzkonzentration der Cadmiumwirkung bei Kurzzeitversuchen liegt damit in der Größenordnung von 0,6 mg CdCl_2 /kg Körpergewicht.

Untersucht man unter diesen Grenzbedingungen das Verhalten des Tubulusepithels, so wird deutlich, daß den sektorenförmigen, typischerweise einen gefäßführenden Bindegewebszwickel zwischen sich einschließenden Nekrosezonen eine Schädigung der Golgifelder der Sertolizellen in diesem Bereich vorausgeht. Die Aktivitäten der TPP-ase, die einen Indikator für die Funktion der Golgifelder und damit für die Sekretionsleistungen der Sertolizellen darstellen, fallen in dieser sektorenförmigen Verteilung aus. Gleichzeitig verlieren in den von ihnen versorgten Spermatozyten die TPP-ase-aktiven Zonen der Golgifelder ihre scharfe Umgrenzung und weiten sich aus als erstes Anzeichen für eine Schädigung der Spermatogenesezellen selbst. Diese Vorgänge leiten die Ausbildung degenerativer Veränderungen ein.

Beobachtungen von Setchell und Waites 1970 unterstützen diese Befunde. Diese Untersucher konnten eine Zerstörung der Blut-Hodenschranke schon vor Abnahme des Blutflusses und vor Erhöhung der Gefäßspermeabilität nachweisen. Als Maß für die Integrität der Blut-Hodenschranke diente ihnen die ⁸⁶Rubidiumaufnahme. Lee und Dixon fanden 1973 bei Mäusen eine Aufnahme von ¹⁰⁹Cadmium in Spermatogonien und elongierten Spermatiden unter einer Konzentration von 1,0 mg CdCl₂/kg, die weder ein Ödem noch Hämorrhagien hervorrief, so daß ein gravierender Gefäßschaden ausgeschlossen war.

Die besondere Verteilung der nekrotischen Tubulussektoren, die im typischen Fall einen gefäßführenden Bindegewebszwickel zwischen sich einschließen, läßt jedoch auf eine Mitbeteiligung der Blutgefäße schließen. Diese Bindegewebszwickel enthalten aber neben Gefäßen vor allem auch die Androgen produzierenden Leydigzellkomplexe. Androgene können, wie Clegg, Carr und Niemi 1969 beobachtet haben, die permeabilitätssteigernde Wirkung von Cadmiumionen verstärken. In Gewebsezonen des Hodens mit hohen Androgenkonzentrationen wird daher den Cadmiumionen der Zugang zum Tubulusepithel erleichtert sein.

Damit ist eine direkte Schädigung des Tubulusepithels durch die Cadmiumionen wahrscheinlich.

Dem gegenüber steht die Auffassung, die Schädigung der Gefäße, wie einleitend zitierte Untersucher sie dargestellt haben, sei der primäre Angriffspunkt der Cadmiumionen. Die aus ihr resultierende Ischämie erkläre alle anderen Phänomene (Aoki und Hoffer 1978). Bereits nach 1 - 2 Stunden fanden sie erste Gefäßschäden. Nach 4 Stunden traten die typischen Nekrosen auf. Diese Untersucher verwendeten jedoch eine Cadmiumdosis von 0,03 mmol/kg Körpergewicht, die 5,5 mg CdCl₂/kg entspricht. Das frühzeitige Auftreten nachweisbarer Gefäßschäden kann daher durch die hohe Cadmiumbelastung bedingt sein. Zudem liegt diese Dosis im für die Versuchstiere letalen Bereich (Alsen, Köpcke, Ohnesorge und Schneider 1976).

Da unter den hier verwandten, sich im Grenzbereich der Cadmiumwirkung bewegend Dosierungen Nekrosen erst nach 24 Stunden auftraten, sind die Versuchsbedingungen und damit die Ergebnisse miteinander nicht vergleichbar.

Ob der hier herausgearbeitete Sertolizellschaden letztlich primärer Effekt der Cadmiumionen oder sekundäre Ischämiefolge ist, läßt sich anhand der vorliegenden Literaturangaben nicht entscheiden. Diese Frage könnten elektronenmikroskopische Untersuchungen des Verhaltens der Gefäße unter den gleichen niedrigen Grenzdosen beantworten.

ZUSAMMENFASSUNG

Mit Hilfe enzymhistochemischer Methoden wird das Verhalten der Thiaminpyrophosphatase und der Adenosintriphosphatase nach intraperitonealer Applikation von CdCl_2 im Hoden adulter Wistarratten beobachtet. Anhand der hierbei herausgearbeiteten enzymhistochemischen Parameter wird eine minimale Grenzkonzentration für die CdCl_2 -Schädigung am Rattenhoden in absteigenden Dosierungen bestimmt:

1. Die Aktivitäten der Thiaminpyrophosphatase in den Sertolizellen fallen sektorenweise aus als erste Störung im Verteilungsbild der untersuchten Enzyme. Dies läßt auf eine Funktionsstörung ihrer Golgiapparate schließen.
2. Als erste der Spermatogenesezellen zeigen die Spermatozyten Veränderungen: Die Reaktionszonen der Thiaminpyrophosphatase in den Golgifeldern verlieren ihre scharfe Umgrenzung und weiten sich aus.
3. Erst später reagiert auch das Verteilungsbild der Adenosintriphosphatase. In den geschädigten Tubulussektoren treten Verdichtungen ihrer Aktivitäten auf.
4. Als Indikator für eine direkte oder indirekte Wirkung der Cadmiumionen auf die Spermatogenesezellen dient die Flächenausdehnung der Thiaminpyrophosphatase-aktiven Reaktionsbereiche in den Golgifeldern. Dieser Parameter wird bei absteigenden Dosierungen erfaßt. Von den verabfolgten Konzentrationen 1,25 mg, 0,94 mg, 0,63 mg und 0,32 mg CdCl_2 pro kg Körpergewicht haben sich 0,63 mg als die untere Grenzkonzentration ergeben, bei der noch Veränderungen des untersuchten Parameters auftreten.

ZITATE

Adams, R.G., Crabtree, N.: Anosmia in Alkaline Battery Workers. Brit. J. Industr. Med. 18 (1961), 216 - 221.

Adams, R.G., Harrison, J.F., Scott, P.: The Development of Cadmium-induced Proteinuria, Impaired Renal Function and Osteomalacia in Alkaline Battery Workers. Quart.J. Med. 38 (1969), 425 - 443.

Allen, J.M. und Slater, J.J.: A chemical and histochemical study of enzymes dephosphorylating adenosine phosphate esters in the epididymis of normal, castrated and testosterone propionate treated castrated mice. Amer. J. Anat. 105 (1959), 117 - 139.

Allen, J.M. und Slater, J.J.: A cytochemical study of golgi associated thiamine pyrophosphatase in the epididymis of the mouse. J. Histochem. Cytochem. 9 (1961), 418 - 423.

Alsen, C., Köpcke, C., Ohnesorge, F.K., Schneider, J.: Effects of Cadmium on Carbonic Anhydrase Activity and Hemoglobin Content of Rat Testis. Arch. Toxicol. 37 (1976), 39 - 46.

Aoki, A., Hoffer, A.P.: Reexamination of the Lesions in Rat Testis Caused by Cadmium. Biol. Reprod. 18 (1978) 579 - 591.

Barr, M.jr.: The Teratogenicity of Cadmium Chloride in Two Stocks of Wistar Rats. Teratology 7 (1973), 237 - 242.

Berliner, A.P., Jones-Witters, P.: Early effects of a lethal cadmium dose on gerbil testes. Biol. Reprod. 13 (1975), 240 - 247.

- Beton, D.C., Andrews, G.S., Davies, H.J., Howells, L.,
Smith, G.F.: Acute Cadmium Fume Poisoning. Brit.J.
Industr.Med. 23 (1966), 292 - 301.
- Bonnell, J.A.: Emphysema and Proteinuria in Men Casting
Copper-Cadmium Alloys. Brit. J. Industr. Med. 12
(1955), 181 - 195.
- Chiquoine, A.D.: Observations on the early events of
cadmium necrosis of the testis. Anat. Rec. 149
(1964), 23 - 35.
- Clegg, E.J., Carr, I.: Changes in the blood vessels of
the rat testis and epididymis produced by cadmium
chloride. J. Path. Bact. 94 (1967), 317 - 322.
- Clegg, E. J., Carr. I., Niemi, M.: The Effect of a Second
Dose of Cadmium Salts on Vascular Permeability in the
Rat Testis. J. Endocr. 45 (1969), 265 - 268.
- Clegg, E. J., Carr, I., Niemi, M.: The Age at which the Blood
Vessels of the Rat Testis Become Sensitive to Cadmium
Salts. J. Endocr. 43 (1969), 445 - 449.
- Dym, M., Fawcett, D.W.: The blood-testis barrier in the rat
and the physiological compartmentation of the seminiferous
epithelium. Biol. Reprod. 3 (1970), 308 - 326.
- Fende, P.L., Niewenhuis, R.J.: An Electron Microscopic
Study of the Effects of Cadmium Chloride on
Cryptorchid Testis of the Rat. Biol. Reprod. 16 (1977),
298 - 305.
- Gunn, S.A., Gould, T.C.: Cadmium and other mineral elements.
In: The testis, Vol. III, 377 - 481: Influencing factors
(A.D. Johnson, W.R. Gomes, N. L. Van Demark, eds.).
New York: Academic Press (1970).

- Gunn, S.A., Gould, T.C., Anderson, W.A.D.: The selective injurious response of testicular and epididymal blood vessel to cadmium and its prevention by zinc. Amer. J. Pathol. 42 (1963 a), 685 - 702.
- Härkönen, M., Kormano, M.: Acute cadmium-induced changes in the energy metabolism of the rat testis. J. Reprod. Fert. 21 (1970), 221 - 226.
- Hilscher, B., Passia, D., Hilscher, W.: Kinetics of the Enzymatic Pattern in the Testis. I. Stage Dependence of Enzymatic Activity and its Relation to Cellular Interactions in the Testis of the Wistar Rat. Andrologia 11(3): 169-181 (1979).
- Hodgen, G.D., Butler, W.R., Gomes, W.R.: In vivo and in vitro effects of cadmium chloride on carbonic anhydrase activity. J. Reprod. Fert. 18 (1969), 156 - 157.
- Johnson, M.H.: An Immunological Barrier in the Guinea-Pig Testis. J. Path.-Vol. 101 (1970), 129 - 139.
- Johnson, A.D., Gomes, W.R., Van Demark, N.L.: Early actions of cadmium in the rat and the domestic fowl testis-I. Testis and body temperature changes caused by cadmium and zinc. J. Reprod. Fert. 21 (1970 a), 383 - 393.
- Johnson, A.D., Miller, W.J.: Early actions of cadmium in the rat and domestic fowl testis II. Distribution of injected ^{109}Cd . J. Reprod. Fert. 21 (1970), 395 - 405.
- Johnson, A.D., Turner, P.C.: Early actions of cadmium in the rat and the domestic fowl VI: Testicular and muscle blood flow changes. Comp. Biochem. Physiol. Vol. 41 A (1972), 451 - 456.
- Johnson, A.D., Walker, G.P.: Early actions of Cadmium in the rat and domestic fowl testis-V. Inhibition of carbonic anhydrase. J. Reprod. Fert. 23 (1970), 463 - 468.
- Kar, A.B., Das, R.P.: Testicular changes in rats after treatment with cadmium chloride. Acta Biol. Med. Ger. 5 (1960), 153 - 173.

- Kipling, M.D., Waterhouse, J.A.H.: Cadmium and Prostatic Carcinoma. *Lancet*, April 1 (1967), 730 - 731.
- Kormano, M., Suvanto, O.: Cadmium-induced changes in the intratesticular pressure in the rat. *Acta Path. Microbiol. Scandinav.* 72 (1968), 444 - 445.
- Lauwerys, R.R., Buchet J.P., Roels, H.A., Brouwers, J., Stanescu, D.: Epidemiological Survey of Workers Exposed to Cadmium. *Arch. Environ. Health* 28 (1974), 145 - 148.
- Lee, I. P., Dixon, R.L.: Effects of Cadmium on Spermatogenesis Studied by Velocity Sedimentation Cell Separation and Serial Mating. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 187 (3) (1973), 641 - 652.
- Lojda, Z., Gossrau, R., Schiebler, T.H.: *Enzymhistochemische Methoden.* (1976) Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Lucis, O.J., Lucis, R., Aterman K.: Tumorigenesis by Cadmium. *Oncology* 26 (1972), 53 - 67.
- Mason, K.E., Brown, J.A., Young, J.O., Nesbit, R.R.: Cadmium-induced injury of the rat testis. *Anat. Rec.* 149 (1964), 135 - 148.
- Morgan, J.M.: Cadmium and Zinc Abnormalities in Bronchogenic Carcinoma. *Cancer* 25 (1970), 1394 - 1398.
- Murata, J., Hirono, T., Saeki, Y., Nakagawa, S.: Cadmium Eneropathy, Renal Osteomalacia ("Itai-Itai" Disease in Japan). *Bull. Soc. Int. Chir.* 1 (1970), 34 - 42.

- Niemi, M., Kormanio, M.: An Angiographic Study of Cadmium Induced Vascular Lesions in the Testis and the Epididymis of the Rat. Acta. Path. Microbiol. Scandinav. 63 (1965), 513 - 521.
- Ohnesorge, F.K.: Zur Toxizität von Cadmium. Schriftenr. Ver. Wasser-Boden-Lufthyg. 40 (0) (1973), 131 - 146.
- Padykula, H., Herman, E.: Factors affecting the activity of adenosine triphosphatase and other phosphatases as measured by histochemical techniques. J. Histochem. Cytochem. 3 (1955 a), 161 - 169.
- Padykula, H., Herman, E.: The Specificity of the histochemical method for adenosine triphosphatase. J. Histochem. Cytochem. 3 (1955 b) 176 - 195.
- Parizek, J.: Sterilisation of the male by cadmium salts. J. Reprod. Fert. 1 (1960), 294 - 309.
- Parizek, J.: The destrucitve effect of cadmium ion on testicular tissue and its prevention by zinc. J. Endocrinol. 15 (1957), 56 - 63.
- Pearse, A.G.E.: Histochemistry, Theoritical and Applied, Vol. 2, 3 rd. ed. Churchil Livingstone, Edinburgh and London (1972).
- Sabbioni, E., Marfante, E.: Heavy Metals in Rat Liver Cadmium Binding Protein. Environ. Physiol. Biochem. 5 (1975), 132 - 141.
- Saikh, Z.A., Lucis, O.J.: Biological Differences in Cadmium and Zinc Turnover. Arch. Environ. Health-Vol. 24 (1972), 410 - 418.

- Schoysman, R.: Present State of Male Contraception. In:
Hubinont P.O. et al., Ed. Sperm. Aktion. Prog.
Reprod. Biol., Vol. 1, 294 - 303 (Krager, Basel 197
- Schroeder, H.A.: Cadmium as a Factor in Hypertension.
J. Chron. Dis. 18 (1965), 647 - 656.
- Setchell, B.P., Waites, G.M.H.: Changes in the Permeability
of the Testicular Capillaries and of the "Blood-
Testis Barrier" after Injection of Cadmium Chloride
the Rat. J. Endocr. 47 (1970), 81 - 86.
- Setchell, B.P., Vogelmayr, J.K., Waites, G.M.H.: A blood-
testis barrier restricting passage from blood into
the rat testis, but not into lymph. J. Physiol.
Lond. 200 (1969), 73 - 85.
- Singhal, R.L., Merali, Z., Hrdina, P.D.: Aspects of the
biochemical toxicology of cadmium. Fed. Proc. 35 (1)
(1976), 75 - 80
- Squibb, K.S., Cousins, R.J., Silbon, B.L., Levin, S.: Liver
and Intestinal Metallothionein: Function in Acute
Cadmium Toxicity. Experimental and Molecular Pathology
25 (Exp. Mol. Pathol. 25) (1976), 163 - 171.
- Szadkowski, D., Schaller, K.H., Lehnert, G.: Renale Cadmium-
ausscheidung, Lebensalter und arterieller Blut-
druck. Z. klin. Chem. u. klin. Biochem. 7 (1969),
551 - 552.
- Tsuchiya, K.: Proteinuria of Workers Exposed to Cadmium Fume.
Arch. Environ. Health 14 (1967), 875 - 880.
- Vilar, O., Cerro, M.I.P. del, Mancini, R.E.: Sertoli Cell as
a "bridge cell" between the basal membrane and the
germinal cells. Exp. Cell. Res. 27 (1962), 158 - 161.

- Waites, G.M.H., Setchell, B. P.: Changes in blood flow and vascular permeability of the testis, epididymis and accessory reproductive organs of the rat after the administration of cadmium chloride. J. Endocr. 34 (1966), 329 - 342.
- Wax, S.H.: Measurement of Testicular Blood Flow by Percutaneous Injection of Xenon - 133. Invest. Urol. 9 (3) (1971), 167 - 173.
- Webb, M.: Biochemical Effects of Cd^{2+} -Injury in the Rat and Mouse Testis. J. Reprod. Fertil. 30 (1972), 83 - 98.
- Webb, M.: Protection by Zinc Ions against the Toxicity of Cadmium Ions. Biochem. J. 124 (1971), 17p - 18p.
- Welch, B.L.: The significance of the difference between two means when the population variances are unequal. Biometrika 29 (1937), 350 - 361.
- Welch, B.L.: The generalisation of "Student`s" problem when several different population variances are involved. Biometrika 34 (1947), 28 - 35.
- Wiśniewska-Knypl., J.M., Jablonska, J., Myślak, Z.: Binding of Cadmium on Metallothionein in Man: An Analysis of a Fatal Poisoning by Cadmium Iodide. Arch. Toxicol. 28 (1971), 46 - 55.

Lebenslauf

- Am 21.10.1954 wurde ich als Sohn der Diplomchemikerin Hilde Rehmann, geborene Schumacher, und des Diplomingenieurs Ernst Rehmann in Düsseldorf geboren.
- 1961 - 1965 Besuch der Grundschule in Bamberg
- bis 1970 Besuch des humanistischen Franz-Ludwig-Gymnasiums in Bamberg
- bis 1974 Wilhelm-Dörpfeld-Gymnasium in Wuppertal
- 1974 Abschluß der Schulbildung mit dem Abitur
- Beginn des Studiums der Humanmedizin in Düsseldorf
- 1976 Ärztliche Vorprüfung
- 1977 I. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Claus Rehmann

